

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES**



**EVALUACIÓN ANTIBACTERIANA DE ESPECIES VEGETALES DE UN
ÁREA DE LA SIERRA MADRE ORIENTAL EN SANTIAGO, NUEVO
LEÓN, MÉXICO**

POR

MVZ. EDMUNDO VILLALÓN RODRÍGUEZ

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS FORESTALES**

NOVIEMBRE, 2018

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO**



TESIS

**EVALUACIÓN ANTIBACTERIANA DE ESPECIES VEGETALES DE UN
ÁREA DE LA SIERRA MADRE ORIENTAL EN SANTIAGO, NUEVO
LEÓN, MÉXICO**

POR

MVZ. EDMUNDO VILLALÓN RODRÍGUEZ

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS FORESTALES**

LINARES, NUEVO LEÓN, MÉXICO

NOVIEMBRE, 2018

**EVALUACIÓN ANTIBACTERIANA DE ESPECIES VEGETALES DE UN ÁREA
DE LA SIERRA MADRE ORIENTAL EN SANTIAGO, NUEVO LEÓN, MÉXICO.**

Aprobación de Tesis



Director: Dr. Luis Rocha Domínguez



Codirector: Dr. Horacio Villalón Mendoza



Asesor: Dr. Fortunato Garza Ocañas



Asesor Externo: Dra. Catalina Leos Rivas

Noviembre de 2018

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo económico que hizo posible llevar a cabo esta investigación.

A la Facultad de Ciencias Forestales de la U.A.N.L. por su accesibilidad en las instalaciones.

Al Dr. Luis Rocha Domínguez por el apoyo recibido al dejarme ser su tesista.

Al comité de tesis, Dr. Horacio Villalón Mendoza, Dr. Fortunato Garza Ocañas y Dra. Catalina Leos Rivas, por todas sus observaciones y recomendaciones tan acertadas, durante el desarrollo de esa investigación

A la Doctora Catalina Rivas Morales por darme la oportunidad de realizar parte de mi tesis en el Laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL .

Al Dr. Eduardo Sánchez García, M.C. David Alejandro Hernández Marín y Q.B.P. Raymundo Alejandro Pérez Hernández por todo su tiempo, apoyo y asesoría para la elaboración de esta tesis.

Al Dr. Jesús Jaime Hernández Escareño por facilitarme las cepas de bacterias utilizadas en este trabajo.

A todos los pobladores que accedieron a ser entrevistados y/o ayudaron a la recolección del material vegetal en la región de Laguna de Sánchez, así como por compartir su conocimiento de forma desinteresada.

DEDICATORIA

A esas personas que siempre han estado para mí, apoyándome en mis decisiones, enseñándome a ser una mejor persona. Les dedico este trabajo a Ustedes, por sus consejos, por sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, por los ejemplos de perseverancia, constancia y de trabajo que me han infundado siempre, por el valor mostrado para siempre salir a delante.

Para ustedes Mamá y Papá

ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN.....	1
2.- ANTECEDENTES.....	3
2.1 Herbolaria mexicana.....	3
2.2 Etnobotánica en el PNCM Santiago, Nuevo León, México.....	3
2.3 Aspectos generales de plantas medicinales.....	4
3.- JUSTIFICACIÓN.....	5
4.- HIPOTESIS Y OBJETIVOS	6
5.- DESCRIPCION DE LA ZONA DE ESTUDIO.....	7
5.1 Localización.....	7
6.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
6.1 Levantamiento de muestras de campo.....	8
6.2 Encuestas.....	8
6.3 Recolección de material vegetal.....	9
6.4 Obtención de los extractos metanólicos	10
6.5 Evaluación de la actividad antimicrobiana	11
6.6 Concentración Mínima Bactericida (CMB).....	13
6.7 Bioensayo de toxicidad sobre nauplios de <i>Artemia salina</i>	14
6.8 Pruebas químicas para grupos funcionales presentes en los extractos ..	15
7.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
7.1 Flora útil.....	19
7.2 Usos	22
7.3 Obtención y rendimiento de los extractos metanólicos.....	25
7.4 Evaluación de la actividad antibacteriana.....	26

7.5 Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB)	28
7.6 Bioensayo de toxicidad sobre nauplios de <i>Artemia salina</i>	30
7.6 Pruebas químicas para grupos funcionales presentes en los extractos ..	30
8.- CONCLUSIONES	32
9.- BIBLIOGRAFÍA	34
10.- ANEXOS	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Plantas seleccionadas del estudio etnobotánico para estudiar su capacidad antibacteriana.	9
Tabla 2 Parte de las plantas que se utilizaron para obtener los extractos metanólicos.	10
Tabla 3 Clasificación de toxicidad según CYTED	15
Tabla 4 Rendimiento obtenido de las plantas.	26
Tabla 5 Clasificación de toxicidad de los extractos obtenidos.	30
Tabla 6 Presencia/ausencia de grupos funcionales en los extractos obtenidos.	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Ubicación del sitio de estudio.	7
Figura 2 Ejecución de encuestas.	8
Figura 3 Obtención de los extractos metanólicos.	11
Figura 4 Halos de inhibición.	13
Figura 5 Obtención de la Capacidad Mínima Bactericida.	14
Figura 6 Pruebas para determinar presencia o ausencia de grupos funcionales.	18
Figura 7 Diversidad de taxa total registrada para la región Laguna de Sánchez.	19
Figura 8 Familias con mayor numero de géneros utilizados para la región de Laguna de Sánchez.	20
Figura 9 Familias con mayor número de especies de plantas medicinales utilizadas en la región Laguna de Sánchez.	20
Figura 10 Géneros con mayor número de especies de plantas medicinales utilizadas en la región Laguna de Sánchez.	21
Figura 11 Formas biológicas más comunes de las plantas medicinales utilizadas en la región Laguna de Sánchez.	22
Figura 12 Familias con mayor número de usos medicinales en la región de Laguna de Sánchez.	22
Figura 13 Especies de plantas medicinales con mayor número de usos utilizadas en la región Laguna de Sánchez.	23
Figura 14 Usos más frecuentes de las plantas medicinales utilizadas en la región Laguna de Sánchez.	24
Figura 15 Parte de la planta más utilizada con fin medicinal en la región Laguna de Sánchez.	24
Figura 16 Forma de preparación más frecuente de las plantas medicinales en la región de Laguna de Sánchez.	25
Figura 17 Promedios y desviación estándar de diámetros de halos de inhibición de los extractos contra <i>S. tiphymurum</i>	26

Figura 18 Promedios y desviación estándar de diámetros de halos de inhibición de los extractos contra <i>S. epidermidis</i>	27
Figura 19 Promedios y desviación estándar de diámetros de halos de inhibición de los extractos contra <i>L. monocytogenes</i>	27
Figura 20 Promedios y desviación estándar de diámetros de halos de inhibición de los extractos contra <i>E. coli</i>	28
Figura 21 Promedios y desviación estándar de diámetros de halos de inhibición de los extractos contra <i>E. coli</i> O157:H7.....	28
Figura 22 Concentración Mínima Bactericida de los extractos de plantas sobre las bacterias en estudio.	29
Figura 23 Concentración Mínima Bactericida de los antibióticos sobre los microorganismos en estudio.	29

RESUMEN

A nivel mundial, un problema de salud pública que se viene observando es la resistencia bacteriana a los antibióticos, principalmente, por el uso irracional de los mismos; por lo que se deben aplicar acciones médicas específicas encaminadas a la promoción de estilos de vida saludables y a la prevención de las enfermedades, utilizando medios naturales o tradicionales de curación aplicados en perfecta armonía con nuestra medicina tecnológica actual. El objetivo principal de la presente investigación fue aducir la capacidad antibacteriana de extractos metanólicos de cinco especies de plantas medicinales que se utilizan en la región de Laguna de Sánchez, Santiago, Nuevo León, México, contra cinco cepas de bacterias, las cuales fueron aisladas de animales domésticos. Para desarrollar este estudio se hizo un diagnóstico previo, se realizó un estudio etnobotánico, en el cual se efectuaron encuestas para obtener un listado de las especies de plantas medicinales que utilizan en la zona, el uso medicinal que les dan, como las preparan, entre otros datos. Una vez obtenido el listado se procedió a una depuración de las especies encontradas, descartando las ya estudiadas o que según las encuestas tienen baja probabilidad de poseer actividad antibacteriana, para finalmente resultar seleccionadas cinco de ellas. Se obtuvieron los extractos metanólicos de estas plantas, se determinó si existía actividad antibacteriana por el método de difusión en pozo en agar, se estableció la concentración mínima bactericida (CMB), se realizó un análisis de toxicidad con nauplios de *Artemia salina* y se hicieron estudios para determinar la presencia o ausencia de grupos funcionales. En el estudio etnobotánico se registraron 28 familias, 49 géneros y 54 especies. Las familias con mayor cantidad de plantas medicinales fueron Asteraceae y Lamiaceae, la planta con mayor cantidad de usos medicinales fue *Aloe vera*, la parte utilizada con mayor frecuencia fue la hoja, hervida a manera de té, mientras que la afección más tratada fue el dolor de estómago. En el análisis realizado por el método de difusión del pozo en agar el extracto metanólico del fruto de *Arbutus xalapensis* obtuvo los mejores resultados contra la mayoría de las bacterias. En los resultados de la CMB se

observó que la bacteria gran negativa fue más resistente a los extractos. En el análisis de toxicidad se registró el extracto de *Arbutus xalapensis* como altamente toxico. La información generada fortalece el conocimiento tradicional además de dar información muy valiosa para futuros estudios que podrían formar nuevos antibióticos.

ABSTRACT

Globally, public health problem that has been observed is bacterial resistance to antibiotics, mainly due to the irrational use thereof; so you should apply specific medical actions aimed at promoting healthy lifestyles and preventing disease using natural means or traditional healing applied in perfect harmony with our present technological medicine. The main objective of this research was to adduce the antibacterial capacity of methanol extracts of five species of medicinal plants used in the region of Laguna de Sanchez, Santiago, Nuevo Leon, Mexico, against five strains of bacteria, which were isolated from domestic animals. To develop this study was a previous diagnosis, an ethnobotanical study, which surveys were conducted to obtain a list of species of medicinal plants used in the area, the medicinal use you give them, as prepared was held between other data. Once you obtained the list we proceeded to a purge of the species found, discarding those already studied or who polls have low probability of having antibacterial activity, to finally be selected five of them. The methanol extracts of these plants were obtained, it was determined whether there antibacterial activity by diffusion method well in agar, the minimum bactericidal concentration (CMB) was established a toxicity analysis was performed using brine shrimp *Artemia salina* and studies were made to determine the presence or absence of functional groups. In the ethnobotanical study 28 families, 49 genera and 54 species were recorded. The families with the largest number of medicinal plants were Asteraceae and Lamiaceae, the plant with the most medicinal uses was Aloe vera, the part most frequently used was the leaf, boiled a way of tea, while the condition treated was pain of stomach. In the analysis by the well diffusion method in agar the methanol extract of the fruit of *Arbutus xalapensis* obtained the best results against most bacteria. In the CMB results it shows that the large negative bacteria was more resistant to the extracts. In the analysis of toxicity *Arbutus xalapensis* extract it was recorded as highly toxic. The information generated strengthens traditional knowledge besides giving valuable information for future studies that could form new antibiotics.

1.- INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana a múltiples sustancias es un problema de salud pública que se viene observando a nivel mundial después de la aparición de los antibióticos. El uso indiscriminado de los antibióticos y la presión selectiva ambiental realizada por antisépticos y desinfectantes ha generado una respuesta de supervivencia en los microorganismos, que los capacita para evadir con eficiencia la acción bactericida de algunos agentes (Cabrera, 2007).

En los últimos años la producción de nuevos antibióticos ha disminuido de forma considerable y ha surgido como un problema la resistencia a estos por la aparición en las bacterias, hongos y protozoarios de mecanismos defensivos con el fin de evadir la acción bactericida de estas sustancias (Pérez, 1998).

Es necesario crear conciencia sobre las consecuencias que se derivan del uso irracional de los antibióticos, ya bien sea por el personal médico como en la comunidad; además deben aplicarse acciones médicas específicas encaminadas a la promoción de estilos de vida saludables y a la prevención de las enfermedades, utilizando medios naturales o tradicionales de curación aplicados en perfecta armonía con nuestra medicina tecnológica actual (Cabrera *et al.*, 2005).

En las últimas décadas se ha incrementado el interés por los productos naturales y sus posibles aplicaciones en la industria farmacéutica en búsqueda de nuevos medicamentos más seguros y eficaces; aproximadamente el 30% de los fármacos empleados en los países industrializados proceden o se han sintetizado a partir de productos vegetales, por lo que los extractos de plantas son una fuente atractiva de nuevos medicamentos (Kahkashan, 2012, Céspedes, 2006).

Las plantas medicinales aportan una gran cantidad de compuestos químicos con carácter antimicrobiano, algunos de los cuales muestran una

actividad *in vitro* comparable a la de los antimicrobianos utilizados en la clínica. El arsenal terapéutico de reino vegetal es incalculable, ya que hasta el momento se conoce un porcentaje muy pequeño de los compuestos naturales procedentes de las plantas. Estas sustancias pueden ser utilizadas directamente como base para la síntesis de nuevos principios útiles en el tratamiento de las infecciones (López y Domingo, 2003).

En general, el principal objetivo del estudio de las plantas medicinales es validar la eficacia de su uso como remedios caseros tradicionales contribuyendo de esta manera con su valor científico. Por otra parte los resultados científicos de una planta medicinal llevan no solo a validar su eficacia, sino en muchas ocasiones al descubrimiento de nuevos compuestos con resultados, no precisamente relacionados con los usualmente reportados en medicina tradicional (Cruz, 2002).

Se tiene que tener mucha precaución al utilizar plantas medicinales para tratar algún padecimiento, ya que la mayoría de estas no están validadas científicamente y "se desconoce si son seguras y eficaces" por lo que, como todo medicamento, deben ser empleadas con cautela, ya que pueden aparecer cuadros tóxicos debido a su uso. Esto no quiere decir que toda la fitoterapia sea nociva, muchos medicamentos proceden de plantas, pero el conocimiento de las hierbas curativas muchas veces es limitado y se desconocen sus efectos, lo que hace necesario informar y alertar sobre su correcta administración y prescripción (Marinoff *et al.*, 2009).

Uno de los biomodelos más utilizados en las etapas preliminares de la investigación fitoquímica, es el bioensayo de letalidad frente a *Artemia Salina*, desarrollada en 1982 por Meyer y Col. El procedimiento consiste en exponer compuestos activos y / o extractos de plantas a nauplios de *Artemia salina*, para determinar valores de concentración letal 50 (CL50). (Martínez y Beltran, 1999). Sin embargo, los valores obtenidos de CL50, no advierten una actividad fisiológica o biológica en particular; son indicadores de toxicidad a nivel celular que pueden orientar investigaciones más específicas (Sánchez y Neira, 2011).

2.- ANTECEDENTES

2.1 Herbolaria mexicana

La validación del conocimiento empírico sobre la herbolaria indígena, particularmente la desarrollada por los aztecas en la época prehispánica, fue realizada por investigadores de la Universidad de Utah en 1975, basada en información registrada en documentos del siglo XVI como el Codice De la Cruz Badiano la cual fue dictada en náhuatl por el médico indígena Martín de la Cruz y traducido al latín por Juan Badiano en 1552 y la Historia general de las cosas de la Nueva España de fray Bernardino. En sus estudios trabajaron con 25 especies, y comprobaron que los principios extraídos de ellas poseen las propiedades terapéuticas referidas en los documentos (Huerta, 1997).

El conocimiento de las plantas medicinales ha sido un factor indispensable que ha ayudado al hombre a combatir las enfermedades y los embates del clima desde hace muchos siglos atrás. No obstante, es hasta el último tercio del siglo XVIII, que aún se sabe sobre el menosprecio de los conocimientos indígenas en el mencionado campo, por la comunidad académica (Sánchez, 2012).

2.2 Etnobotánica en el PNCM Santiago, Nuevo León, México.

En un estudio etnobotánico en el Parque Nacional Cumbres de Monterrey (PNCM), Nuevo León, México, se realizaron 95 encuestas a habitantes mayores de 35 años, y se recogieron datos etnobotánicos de 240 especies (que comprenden 170 géneros y 69 familias botánicas), y 146 usos diferentes. La mayoría de los usos citados (98) se encontró que eran los medicinales.

2.3 Aspectos generales de plantas medicinales

En un estudio realizado se obtuvieron los extractos acuosos, etanólico, hexanólico y metanólico de tallo hoja y raíz de *Carlwrightia cordifolia* y midieron la actividad antimicrobiana por el método de difusión en placa con cada uno de los extractos, reportaron que el extracto hexanólico de hojas tiene el de mayor espectro, pues mostro actividad antibacteriana contra 6 especies bacterianas (*Salmonella* sp, *Badilas cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, y *Escherichia coli*) y una especie fúngica (*Candida albicans*) (Cruz, 2002).

Evaluaron la actividad antibacteriana y citotóxica del extracto metanólico crudo de *Leucophyllum frutescens* ("censizo") contra la cepa de *Staphylococcus aureus* de un aislado clínico. El estudio de la actividad antimicrobiana demostró que el extracto de hojas de *Leucophyllum frutescens* presenta actividad en las tres concentraciones evaluadas 1000, 500 y 250 µg/mL, con una concentración mínima inhibitoria de 25.4 µg/mL. Estos hallazgos contribuyen al conocimiento científico de las plantas medicinales del Norte de México con propiedades antibacterianas. (Vega, 2013).

3.- JUSTIFICACIÓN

Actualmente a nivel mundial se vive un problema de salud pública debido a la resistencia bacteriana a los antibióticos, por lo que es de vital importancia la búsqueda de nuevas alternativas para la prevención y tratamiento de infecciones bacterianas. Las plantas son una alternativa, ya que en ellas se encuentran una gran variedad de moléculas con propiedades medicinales y terapéuticas.

Se ha estudiado un muy bajo porcentaje de las plantas medicinales que existe, por lo tanto, es prioritario que esta área de estudio sea atendida mediante estudios de investigación científica.

4.- HIPOTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis

Los extractos metanólicos de *G. inuloides*, *H. inuloides*, *A. xalapensis*, *T. cubense* y *M. malacophylla* muestran actividad antibacteriana contra las bacterias *S. epidermidis*, *L. monocytogenes*, *S. typhimurum*, *E. coli* y *E. coli* O157:H7.

Objetivos

General

- Conocer la actividad antibacteriana de los extractos metanólicos de *G. inuloides*, *H. inuloides*, *A. xalapensis*, *T. cubense* y *M. malacophylla*, las cuales provienen de la región Laguna de Sánchez, Santiago Nuevo León, México.

Específicos

- Realizar un listado de las especies medicinales que utilizan en la región de la Laguna de Sánchez en Santiago Nuevo León para el control de enfermedades en personas o animales domésticos.
- Obtención de extractos metanólicos de *G. inuloides*, *H. inuloides*, *A. xalapensis*, *T. cubense* y *M. malacophylla* y determinar la actividad antibacteriana de estas especies utilizando el método de difusión en pozo en agar.
- Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB) de los extractos que muestren actividad biológica relevante.
- Conocer la toxicidad en *Artemia salina* de los extractos de *G. inuloides*, *H. inuloides*, *A. xalapensis*, *T. cubense* y *M. malacophylla*.
- Caracterización de los principales principios activos de los extractos, por medio de reacciones químicas de identificación de grupos funcionales.

5.- DESCRIPCION DE LA ZONA DE ESTUDIO

5.1 Localización

La región Laguna de Sánchez se localiza en el municipio Santiago, Nuevo León, México, en la Sierra Madre Oriental (Figura 1). Esta a una altitud de 1879m. Y se encuentra entre los paralelos 25°20'46" N y 100°16'48" W.



Figura 1 Ubicación del sitio de estudio.

6.- MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Levantamiento de muestras de campo

Se realizaron recorridos en campo en distintas épocas del año (invierno, primavera y verano), con pobladores de la región Laguna de Sánchez, Santiago, N.L., los cuales ayudaron al reconocimiento y colecta de las plantas con algún uso medicinal, proporcionando el nombre común que ellos aplicaban. Posteriormente fueron prensadas en campo y trasladadas al Laboratorio de Botánica de la Facultad de Ciencias Forestales, U.A.N.L., donde fueron secadas a la sombra y posteriormente se identificaron.

6.2 Encuestas

Esta etapa (marzo-abril 2015) consistió en recaudar la mayor información sobre las plantas medicinales que utilizan en la región Laguna de Sánchez (nombre de las plantas, uso medicinal, parte de la planta que se utiliza, forma de preparación y fecha de recolección). Esto se llevó a cabo por medio de 15 encuestas dirigidas a personas mayores de 40 años las cuales tienen experiencia en la recolección y/o venta de plantas medicinales (ver Figura 2).



Figura 2 Ejecución de encuestas.

Con la información recabada, se elaboró una base de datos donde se clasificó cada planta por familia, nombre científico, nombre común, parte de la planta que utilizan, método de preparación y usos, además se clasificó por hábitos (árbol, arbusto, herbácea).

6.3 Recolección de material vegetal

Se realizó una fase previa al diseño experimental para obtener y analizar información bibliográfica de las especies registradas por medio de las entrevistas, y así realizar una selección de especies para su posterior análisis en laboratorio, para la selección de especies se tomó en cuenta la posibilidad de que estas presenten actividad antibacteriana según el uso medicinal de la planta, que no se hayan realizado trabajos experimentales anteriores y la distribución geográfica de las plantas (Williamson y Okpako, 1996). Las plantas seleccionadas se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1 Plantas seleccionadas del estudio etnobotánico para estudiar su capacidad antibacteriana.

Nombre común	Nombre científico
Madroño	<i>Arbutus xalapensis</i>
Árnica morada	<i>Grindelia inuloides</i>
Árnica	<i>Heterotheca inuloides</i>
Charrasquilla	<i>Mimosa malacophylla</i>
Yerba de la gallina	<i>Teucrium cubense</i>

Una vez que se seleccionaron y recolectaron las plantas, se trasladaron a la Facultad de Ciencias Forestales donde se secaron en estufas a una temperatura de 40 °C durante 3 días, posteriormente fueron llevadas al Laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Biología de la UANL, donde se procedió a obtener el extracto metanólico de las plantas.

6.4 Obtención de los extractos metanólicos

Se separaron las partes de las especies de plantas que se seleccionaron para trabajar (Tabla 2), para tritarlas por separado en un molino. Después se tomaron 75 gramos de cada muestra y se colocaron en matraces Erlenmeyer y se agregaron 350 ml de metanol, posteriormente se sellaron herméticamente y se dejaron en agitación constante durante 5 días en un agitador, luego se filtró el macerado utilizando papel Whatman No. 1. El solvente se evaporó a presión reducida en un rotaevaporador a 30rpm y 50 °C, el extracto se llevó a sequedad completa (ver Figura 3) (Rodríguez *et al.*, 2010).

Tabla 2 Parte de las plantas que se utilizaron para obtener los extractos metanólicos.

Planta	Parte de la planta utilizada
<i>Arbutus xalapensis</i>	Tallo y hojas
<i>Arbutus xalapensis</i>	Fruto inmaduro
<i>Grindelia inuloides</i>	Hojas, tallo y raíz
<i>Grindelia inuloides</i>	Flor
<i>Heterotheca inuloides</i>	Hojas tallo y raíz
<i>Heterotheca inuloides</i>	Flor
<i>Mimosa malacophylla</i>	Tallo y hojas
<i>Teucrium cubense</i>	Hojas tallo raíz y flor



Figura 3 Obtención de los extractos metanólicos.

El cálculo del rendimiento de la extracción se obtuvo de la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{PE}}{\text{PI}} \times 100$$

Dónde:

PE = Peso obtenido después de la extracción.

PI = Peso inicial del material vegetal a extraer.

6.5 Evaluación de la actividad antimicrobiana

Para evaluar el efecto antibacteriano de los extractos crudos de las plantas que se seleccionaron, sobre el crecimiento de las cepas bacterianas se utilizó el método de difusión en pozo en agar (Das *et al.*, 2010). Este método consiste en sembrar por extensión, con la ayuda de un asa de Driglasky, 100 µl de las cepas previamente activadas, sobre placas Petri con medio sólido de *C. Rivas* (Patente IMPI MX/10892). Posteriormente se realizaron pozos en el agar, utilizando un tubo estéril invertido (aprox. 6 mm de diámetro) y posteriormente el agar fue retirado con la ayuda de una espátula estéril. En cada pozo se

agregaron 100 µl de los extractos a evaluar; como blanco se utilizó en uno de los pozos 100 µl del solvente en el cual fueron resuspendidos los extractos. Las placas se incubaron a 37°C por 24 h. El efecto antimicrobiano del extracto fue evidenciado mediante la presencia o ausencia de un halo de inhibición del crecimiento alrededor del pozo (Figura 4) el cual se midió con un vernier y los resultados se expresaron en cm.

En este ensayo se realizaron 4 repeticiones por duplicado, y se utilizaron las siguientes bacterias: *S. typhimurium*, *S. epidermidis*, *L. monocytogenes*, *E. coli* y *E. coli O157:H7* todas estas obtenidas de animales y aisladas en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.A.N.L.



Figura 4 Halos de inhibición.

6.6 Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Para determinar la concentración mínima bactericida (CMB) se utilizó el método propuesto por Sánchez *et al.*, (2010) con ligeras modificaciones. En este caso se inocularon 30 ml de caldo C. Rivas, con 300 μ l (1%) de cada uno de los cultivos previamente activados. Los cultivos fueron homogenizados y posteriormente se tomaron diferentes volúmenes del medio activado los cuales fueron colocados en una microplaca de 96 pozos, mas diferentes concentraciones de los extractos seleccionados, el volumen final de cada pozo fue ajustado a 200 μ l. Las placas se incubaron a 37°C por 24 h. Después se tomaron 20 μ l de cada pozo donde no se observó crecimiento y se realizó técnica de siembra descrita por Miles y Misra (ver Figura 5), que consiste en una siembra por goteo sobre el agar C. Rivas. Las placas se incubaron de acuerdo a la metodología antes descrita. Pasado el tiempo de incubación se determinó la CMB la cual fue definida como la concentración más baja del

extracto que inhibe completamente el crecimiento microbiano. Cabe mencionar que lo anterior se llevó a cabo de igual manera para el MeOH.

Este ensayo se llevo a cabo con dos bacterias, una gram positiva (*S. epidermidis*) y una gram negativa (*E. coli*), y con tres extractos (*G. inuloides*, *H. inuloides* y *M. malacophylla*), y dos antibióticos (amoxicilina y sulfadoxina/trimetoprim), esto como control positivo, todos ellos seleccionados estratégicamente, basándonos en las encuestas y la literatura.

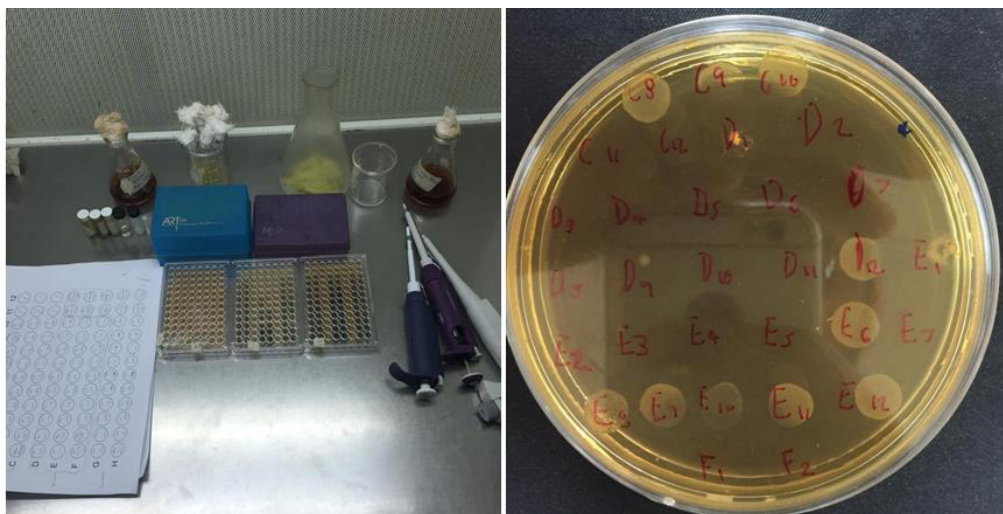


Figura 5 Obtención de la Capacidad Mínima Bactericida.

6.7 Bioensayo de toxicidad sobre nauplios de *Artemia salina*

En un recipiente de material acrílico obscuro con 300 mL de agua de mar artificial se incubaron 0.1 g de huevecillos de *A. salina* durante 48 h. Una vez eclosionados se tomaron 10 nauplios en un volumen de 100 μ L de agua de mar y se colocaron en una microplaca de 96 pozos, posteriormente se adicionaron 100 μ L de las concentraciones del extracto: 100 a 1000 μ g/mL. Se utilizó como control negativo agua de mar artificial. Los nauplios de *A. salina* estuvieron expuestos a las soluciones de extracto durante 24 h bajo las mismas condiciones. Después de este tiempo se contaron los nauplios muertos por concentración con ayuda de un estereomicroscopio (Iroscope® WB2, EUA), los

ensayos se realizaron dos veces por triplicado con 5 extractos (*H. inuloides*, *G. inuloides*, *M. malacophylla*, *T. cubense* y *A. xalapensis*). Para determinar la DL50 se utilizó el método estadístico Probit (Meyer *et al.*, 1982 y Solís *et al.*, 1993). Finalmente, se clasificaron los extractos evaluados según la DL50 obtenida, tomando como referencia las recomendaciones del CYTED (ver Tabla 3).

Tabla 3 Clasificación de toxicidad según CYTED

Clasificación	DL50
Extremadamente tóxico	1-10 µg
Altamente tóxico	10-100 µg
Moderadamente tóxico	100-500 µg
Ligeramente tóxico	500-1000 µg
Prácticamente no tóxico	1000-1500 µg
Relativamente inocuo	>1500 µg

6.8 Pruebas químicas para grupos funcionales presentes en los extractos

Cinco de los extractos obtenidos (*H. inuloides*, *G. inuloides*, *M. malacophylla*, *T. cubense* y *A. xalapensis*) fueron sometidos a pruebas químicas (ver Figura 6), esto con el fin de conocer la presencia o ausencia de los siguientes grupos funcionales:

Alcaloides (Prueba de Dragendorff): Esta prueba se utiliza como revelador en cromatografía donde aparece la mancha color naranja que debe persistir más de 24 h. Se prueba directamente el extracto, es decir, se coloca una pequeña cantidad de muestra disuelta en etanol y se agregan una o dos gotas del reactivo, si se observa un precipitado naranja es positiva para alcaloides).

Preparación del reactivo:

Solución A: Se disolvieron 0.85 g de nitrato de bismuto en una mezcla de 10 ml de ácido acético y 40 ml de agua.

Solución B: Se disolvieron 8.0 g de yoduro de potasio en 20 ml de agua destilada.

Carbohidratos (Prueba de la Antrona): En un tubo de ensaye se colocarán 1-2 mg de la muestra disuelta en agua, después se dejaron resbalar por las paredes del tubo una solución reciente de antrona al 0.2 % en ácido sulfúrico concentrado; la prueba es positiva si en la interfase aparecía un anillo de color azul-verdoso o violeta.

Cumarinas.- Se disolvieron 2 mg de la muestra en una solución de hidróxido de sodio al 10 %; si aparecía una coloración amarilla, la cual desaparece al acidular, la prueba es positiva.

Dobles enlaces (Prueba de permanganato de potasio): Se disolvieron 1-2 mg de la muestra en 1 ml de agua, acetona o metanol y se añadió gota a gota una solución de permanganato de potasio al 2 % en agua; la prueba fue positiva cuando se observó decoloración o formación de un precipitado café de bióxido de manganeso.

Esteroles y triterpenos (Prueba de Liebermann-Burchard): El reactivo se preparó mezclando un ml de anhídrido acético más un ml de cloroformo y 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Una gota del reactivo se le añadió a la muestra (1-2 mg) disuelta en 1 ml de cloroformo o sin disolver, la aparición de un color azul o morado, fue prueba positiva para esteroides y color rojizo para triterpenos, en el lapso de 1 h, particularmente los insaturados.

Flavonoides (Prueba de Shinoda): Se disolvieron 1-2 mg de la muestra en 1 ml de etanol agregando unas gotas de ácido clorhídrico concentrado y una o dos limaduras de magnesio; cuando la solución se tomó de color rojo intenso,

la prueba fue positiva, otro color como anaranjado, verde o azul indicó la presencia de flavonas, flavononas, flavonoles, flavononoles o xantonas.

Grupo carbonilo (Prueba de la 2, 4-dinitrofenilhidrazina): (100 mg de 2,4, DFNH + 10 ml de EtOH + 3 ml de HCl aforar a 100 ml con agua destilada) se añadieron unas gotas de este reactivo a la muestra disuelta en etanol, la formación de un precipitado amarillo, rojo o naranja indicó la presencia de un grupo carbonilo.

Grupo carboxilo (Prueba de bicarbonato de sodio): Se agregaron unas gotas de la solución de bicarbonato de sodio al 10 % en agua a la muestra (1-2 mg) disuelta en 1 ml de agua o etanol. La prueba fue positiva cuando se observó el desprendimiento de burbujas de anhídrido carbónico.

Quinonas: A 2 a 3 mg de muestra se le añadieron 1 o 2 gotas de ácido sulfúrico para prueba positiva de quinonas que se coloreó de rojo y se confirmó al añadir 2-3 gotas de hidrosulfito de sodio al 5% decolorando la solución y se regeneró el color añadiendo de 2-3 gotas de agua oxigenada al 30 %.

Saponinas: En un tubo de ensaye se colocó la muestra (1-2 mg) disuelta en 1 ml de agua, se sacudió y si se formaba una espuma abundante y permanecía más de 15 min, la prueba se consideraba positiva.

Sesquiterpenlactonas (Prueba de Baljet): Se utilizaron 2 soluciones que se mezclaron en volúmenes iguales antes de usarse. La solución A se preparó pesando un gramo de ácido pícrico y disolviéndolo en 100 ml de etanol; para la solución B se pesaron 10 g de hidróxido de sodio, disolviéndolos en 100 ml de agua. Para la prueba se pusieron de 3 a 4 mg de compuesto de prueba, añadiendo 3 a 4 gotas del reactivo, fue positiva cuando se formó una coloración anaranjada o roja oscura.

Taninos (Prueba de cloruro férrico): Se disolvió la muestra (1-2 mg) en 1 ml de etanol, añadiendo unas gotas de cloruro férrico al 5 % en etanol; la coloración verde oscura o negra indicó que la prueba era positiva.

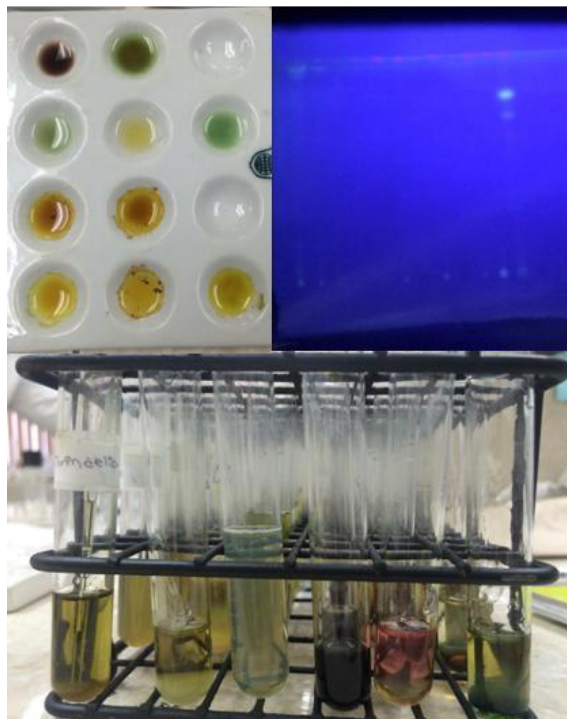


Figura 6 Pruebas para determinar presencia o ausencia de grupos funcionales.

7.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se entrevistaron a un total de 15 personas mayores de 40 años, de las cuales 8 fueron de sexo femenino y 7 de sexo masculino.

7.1 Flora útil

En un estudio etnobotánico que se realizó en el Parque Nacional Cumbres de Monterrey (PNCM) se registraron 240 especies, 170 géneros y 69 familias botánicas, se inventariaron 146 usos diferentes, de los cuales 98 son medicinales (Estrada *et al.*, 2007). Dentro del PNCM se encuentra la región de Laguna de Sánchez donde se registró un total de 28 familias, 49 géneros y 54 especies (Anexo 1)(ver Figura 7).

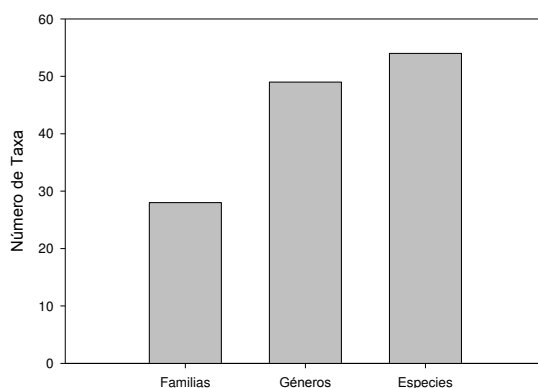


Figura 7 Diversidad de taxa total registrada para la región Laguna de Sánchez.

Entre las familias con mayor número de géneros utilizados en esta región se encontró: Asteraceae y Lamiaceae con 10 y 8 géneros respectivamente (ver Figura 8).

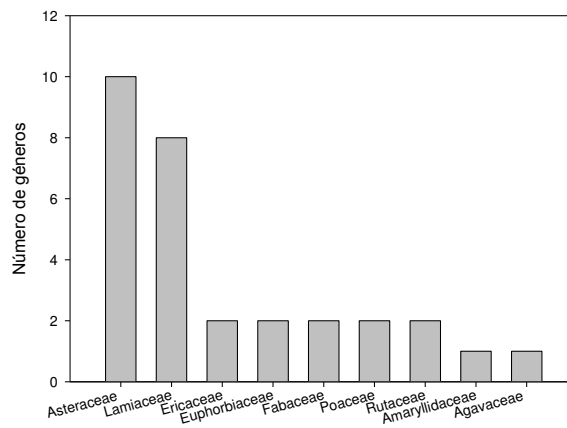


Figura 8 Familias con mayor numero de géneros utilizados para la región de Laguna de Sánchez.

Las familias con mayor número de especies utilizados en la región Laguna de Sánchez son: Asteraceae y Lamiaceae con 12 y 10 géneros respectivamente (ver Figura 9).

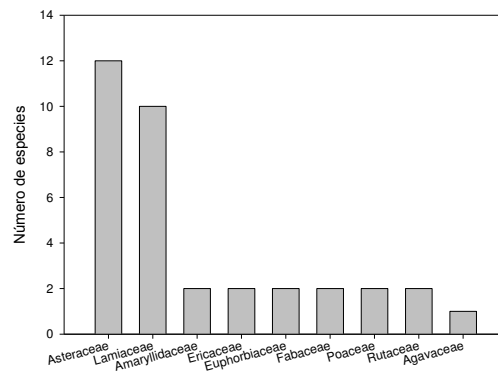


Figura 9 Familias con mayor número de especies de plantas medicinales utilizadas en la región Laguna de Sánchez.

Los resultados anteriores concuerdan con el trabajo etnobotánico que se realizó en los municipios de Bustamante, Villaldama y Sabinas Hidalgo, Nuevo León, donde de igual manera se registraron las familias Asteraceae y Lamiaceae como las mas predominantes (Bustamante, 2013), también

coinciden con los trabajos realizados en el Nuevo León (Estrada *et al.*, 2007), Tamaulipas (Jasso, 2015), San Luis Potosí (Carranza, 2013) y Puebla (Martínez *et al.*, 2010).

Los géneros con mayor número de especies fueron: *Allium*, *Artemisia*, *Bidens*, *Mentha* y *Origanum* con dos especies cada una, mientras que los otros géneros solo presentan una especie (ver Figura 10).

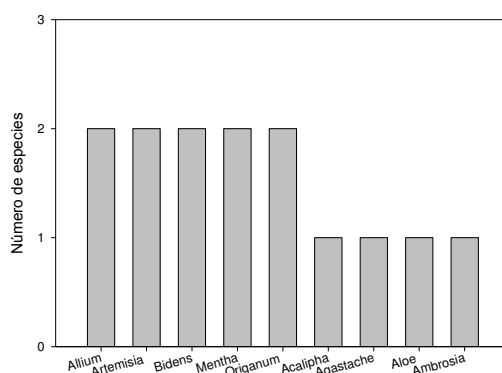


Figura 10 Géneros con mayor número de especies de plantas medicinales utilizadas en la región Laguna de Sánchez.

La forma biológica más común fue la herbácea con 28 especies, seguida de la arbustiva con 17 y por último la arbórea con 9 apariciones (ver Figura 11). Este orden se repite en el trabajo de Jasso (2015) quien realizó un estudio etnobotánico en el municipio de Güémez, Tamaulipas, México, y sus resultados resultaron en el mismo orden. También se difiere con lo obtenido en el trabajo de Bustamante (2013), en el que obtuvo en primer lugar las herbáceas, seguido de arbóreas y al final las arbustivas.

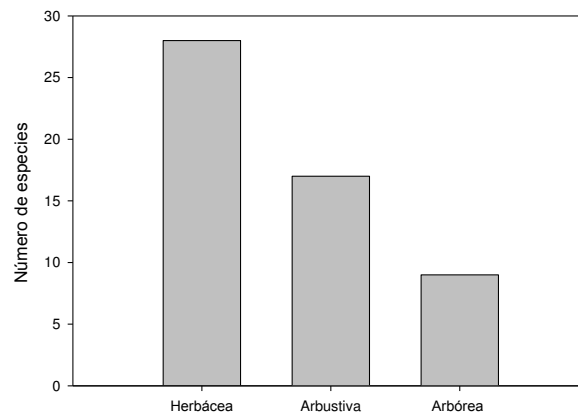


Figura 11 Formas biológicas más comunes de las plantas medicinales utilizadas en la región Laguna de Sánchez.

7.2 Usos

En el estudio se encontró que las familias de plantas con mayor número de usos medicinales fueron: Asteraceae con 20 usos y Lamiaceae con 12 usos diferentes (ver Figura 12).

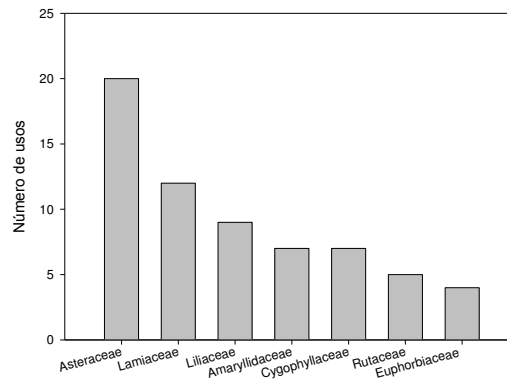


Figura 12 Familias con mayor número de usos medicinales en la región de Laguna de Sánchez.

Las especies con mayor número de usos registrados fueron: *Aloe vera* (9), *Larrea tridentata* (7), *Allium sativum* (6), *Matricaria recutita* (5) y *Origanum vulgare* (4) (ver Figura 13). No es sorprendente que *Aloe vera* se encuentre en

primer lugar, la publicidad otorgada a esta especie, además de los buenos resultados que brinda como planta medicinal ha hecho que se utilice cada vez por más personas (Stevens, 1997). Además esta información coincide con el estudio etnobotánico en los municipios de Bustamante, Villaldama y Sabinas Hidalgo, Nuevo León, donde registraron *Aloe vera* como la especie con mayor número de usos (Bustamante, 2013).

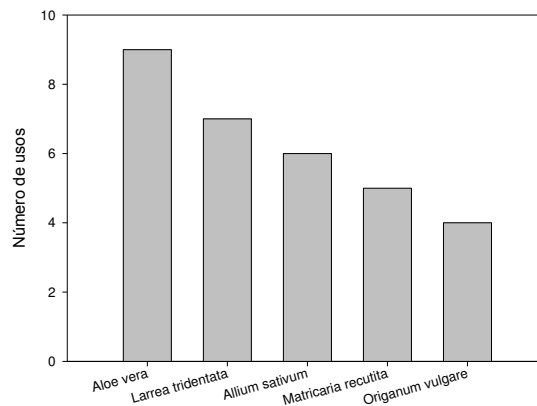


Figura 13 Especies de plantas medicinales con mayor número de usos utilizadas en la región Laguna de Sánchez.

Se registró un total de 54 usos, de los cuales el principal padecimiento a curar con mayor número de plantas útiles fue: dolor de estomago con un total de 11 especies (ver Figura 14). de la misma manera el dolor de estomago fue el padecimiento a curar con mayor número de plantas en los trabajos de Bustamante (2013) y Jasso (2015).

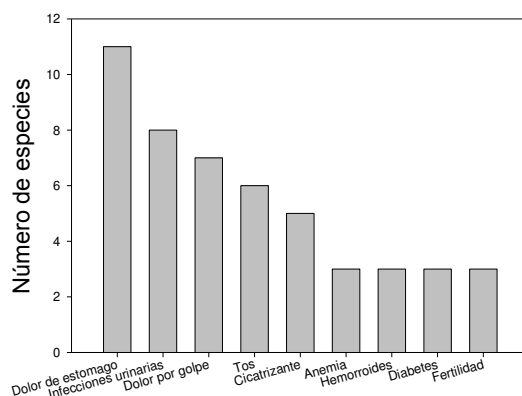


Figura 14 Usos más frecuentes de las plantas medicinales utilizadas en la región Laguna de Sánchez.

De las 54 de las especies de plantas medicinales, las hojas son la parte de las plantas más utilizada (ver figura 15). Esto se debe principalmente a que es el órgano fotosintético de las plantas y la encargada de producción de metabolitos secundarios (Ayyanara y Ignacimuthu 2011; Hassan-Abdallah, *et al.*, 2013).

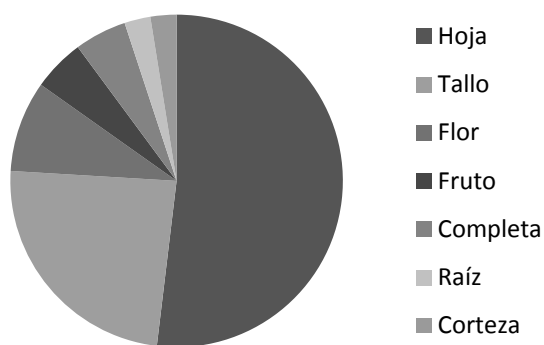


Figura 15 Parte de la planta más utilizada con fin medicinal en la región Laguna de Sánchez.

La forma de empleo más frecuente de las plantas es hervido (50 especies) ya sea en té o infusión (ver Figura 16).

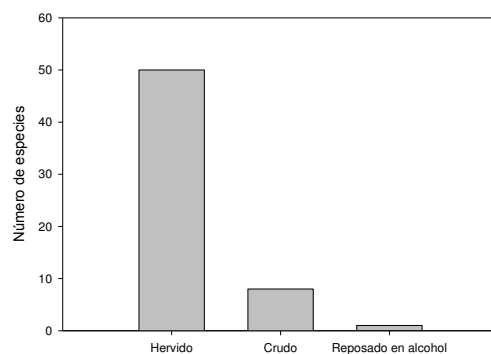


Figura 16 Forma de preparación más frecuente de las plantas medicinales en la región de Laguna de Sánchez.

7.3 Obtención y rendimiento de los extractos metanólicos

Para la obtención de los extractos metanólicos, se utilizaron diferentes pesos de planta seca molida, así como distintos volúmenes de metanol. Después de la extracción se obtuvo el rendimiento de cada una de las plantas, siendo la especie de mayor rendimiento el tallo y las hojas de *Arbutus xalapensis* con un 17.42% (ver Tabla 4).

Pandey & Tripathi (2014) realizaron una investigación en la que concluyeron que el metanol es el solvente que puede extraer mayor cantidad de compuestos de una planta. Es por esto que los extractos utilizados en esta investigación fueron obtenidos con el solvente mencionado.

Tabla 4 Rendimiento obtenido de las plantas.

Especie	Rendimiento
Tallo y hojas de <i>Arbutus xalapensis</i>	17.42%
Flor de <i>Grindelia inuloides</i>	14.63%
Hojas tallo y raíz de <i>Teucrium cubense</i>	9.38%
Tallo y hojas de <i>Mimosa malacophylla</i>	8.33%
Hojas, tallo y raíz de <i>Grindelia inuloides</i>	8.08%
Fruto inmaduro de <i>Arbutus xalapensis</i>	7.14%
Flor de <i>Heterotheca inuloides</i>	6.25%
Hojas, tallo y raíz de <i>Heterotheca inuloides</i>	6.04%

7.4 Evaluación de la actividad antibacteriana

Todos los extractos metanólicos mostraron actividad antibacteriana contra las 5 bacterias utilizadas en el experimento, el extracto del fruto de *Arbutus xalapensis* es el que mostró mejores resultados en la mayoría de las bacterias (ver Figuras 17-21).

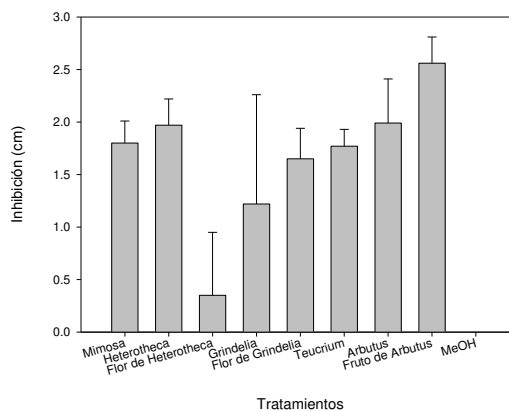


Figura 17 Promedios y desviación estándar de diámetros de halos de inhibición de los extractos contra *S. typhimurium*.

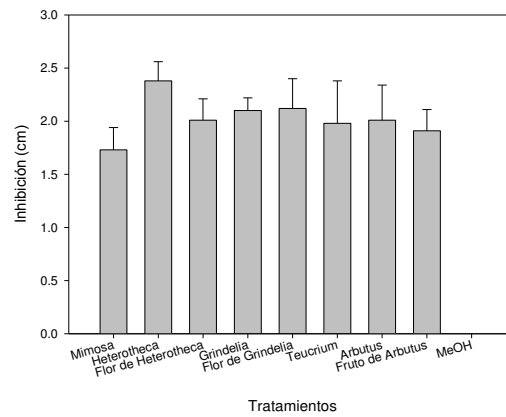


Figura 18 Promedios y desviación estándar de diámetros de halos de inhibición de los extractos contra *S. epidermidis*

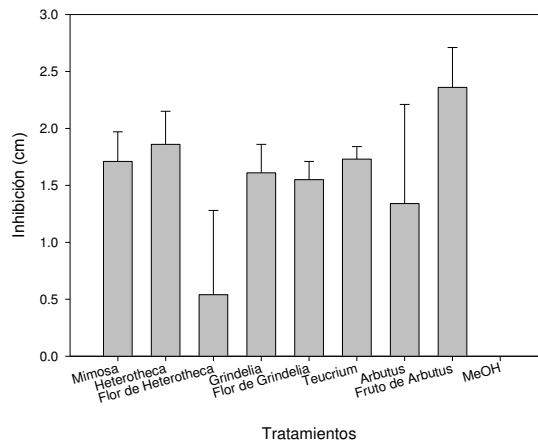


Figura 19 Promedios y desviación estándar de diámetros de halos de inhibición de los extractos contra *L. monocytogenes*

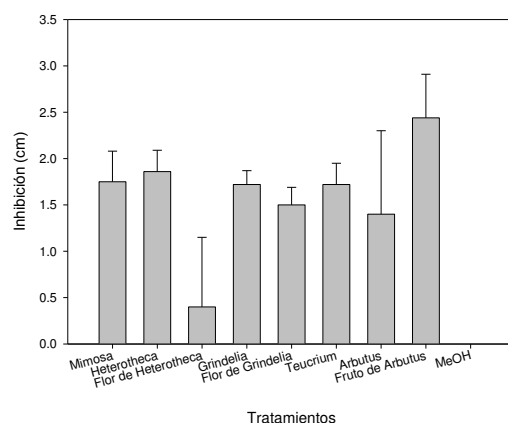


Figura 20 Promedios y desviación estándar de diámetros de halos de inhibición de los extractos contra *E. coli*.

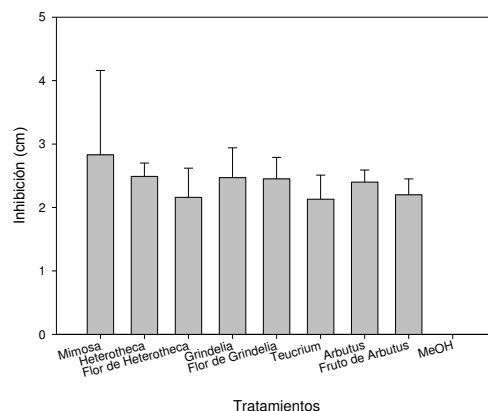


Figura 21 Promedios y desviación estándar de diámetros de halos de inhibición de los extractos contra *E. coli* O157:H7

7.5 Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB)

En los resultados obtenidos se puede observar como la bacteria gran negativa presenta mayor resistencia a los extractos, siendo el extracto de *Grindelia inuloides* el más activo con una CMB de 23.3 ± 5.2 mg/ml y el de menor actividad fue el extracto de *Mimosa malacophylla* con valores de 46.7

± 5.2 mg/ml. La cepa de *S. epidermidis* se mostró más susceptible a los extractos siendo nuevamente de mayor actividad el de *Grindelia inuloides* (17.5 ± 2.7 mg/ml), y el menos activo el de *Heterotheca inuloides* (19.2 ± 2 mg/ml) (ver Figura 22).

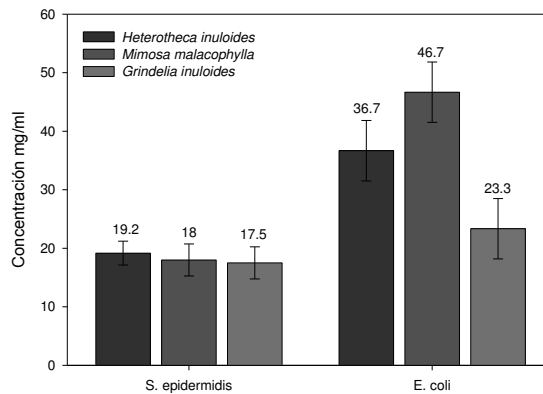


Figura 22 Concentración Mínima Bactericida de los extractos de plantas sobre las bacterias en estudio.

En la CMB de los antibióticos se observó que en ambas bacterias la amoxicilina tuvo mayor actividad (ver Figura 23).

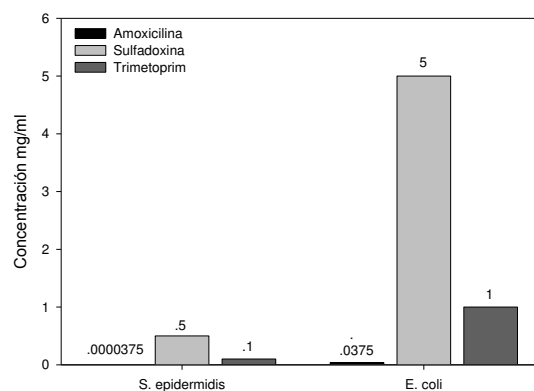


Figura 23 Concentración Mínima Bactericida de los antibióticos sobre los microorganismos en estudio.

7.6 Bioensayo de toxicidad sobre nauplios de *Artemia salina*

La toxicidad en vivo de un organismo animal puede usarse como método conveniente para el seguimiento y fraccionamiento en la búsqueda de nuevos productos naturales bioactivos; por tal razón, en este trabajo se decidió realizar el bioensayo de letalidad sobre nauplios de *Artemia salina*. Este organismo es fácil de cultivar y manipular en laboratorio, es sensible a una gran variedad de tóxicos; y genera resultados confiables, además es una alternativa poco costosa, sencilla y rápida. Puede ser usada de manera rutinaria en la investigación fitoquímica y permite crear una base para adelantar posteriores estudios, que brinden aplicaciones (Forero, 2002).

La obtención de la DL50 de los extractos se realizó como se explica en la sección 6.7. Los resultados obtenidos en el ensayo de toxicidad se resumen en la Tabla 5.

Tabla 5 Clasificación de toxicidad de los extractos obtenidos.

Extracto	DL50	Toxicidad
<i>Mimosa malacophylla</i>	> 1500 µg/ml	Relativamente inocuo
<i>Arbutus xalapensis</i>	25.76 µg/ml	Altamente tóxico
<i>Heterotheca inuloides</i>	362.05 µg/ml	Moderadamente tóxico
<i>Grindelia inuloides</i>	170.26 µg/ml	Moderadamente tóxico
<i>Teucrium cubense</i>	> 1500 µg/ml	Relativamente inocuo

7.6 Pruebas químicas para grupos funcionales presentes en los extractos

Para la determinación parcial de los compuestos responsables de la actividad biológica, se efectuaron reacciones químicas indicativas de la presencia de grupos funcionales (ver Tabla 6).

Tabla 6 Presencia/ausencia de grupos funcionales en los extractos obtenidos.

Grupos funcionales	Extractos de plantas				
	<i>G. inuloides</i>	<i>A. xalapensis</i>	<i>M. malacophylla</i>	<i>T. cubense</i>	<i>H. inuloides</i>
Dobles enlaces	-	+	-	-	+
Carbonilo	+	+	+	+	-
Esteroles Triterpenos	+	+	+	+	+
Cumarinas	+	+	+	+	+
Sesquiterpenlactonas	-	+	-	+	-
Carboxilo	+	+	+	+	+
Zaponinas	-	-	-	-	-
Taninos	+	+	+	+	+
Alcaloides	-	-	-	-	-
Flavonoides	-	+	+	-	+
Carbohidratos	+	+	+	+	+
Quinonas	-	-	-	+	-

8.- CONCLUSIONES

Se encontró que la región de Laguna de Sánchez, ubicada en Santiago, Nuevo León, México, posee una rica diversidad de 28 familias, 49 géneros y 45 especies de plantas medicinales, las cuales son utilizadas para tratar 54 afecciones. Las familias mejor representadas son Asteraceae y Lamiaceae. La sábila (*Aloe vera*), gobernadora (*Larrea tridentata*), ajo (*Allium sativum*), manzanilla (*Matricaria recutita*) y oregano (*Origanum vulgare*), son las plantas con más usos. Las hojas son la parte de la planta que más utilizan, estas las hierven y utilizan a manera de té, la afección mas tratada con plantas medicinales es el dolor estomacal.

Se logró registrar y obtener la actividad antibacteriana de los extractos metanólicos de *G. inuloides*, *H. inuloides*, *A. xalapensis*, *T. cubense* y *M. malacophylla*, las cuales provienen de la región Laguna de Sánchez, Santiago Nuevo León, México, describiéndose de la siguiente forma:

Los extractos metanólicos de *G. inuloides*, *H. inuloides*, *A. xalapensis*, *T. cubense* y *M. malacophylla* mostraron actividad antibacteriana contra las bacterias *S. epidermidis*, *L. monocytogenes*, *S. typhimurum*, *E. coli* y *E. coli* O157:H7. Siendo el extracto metanólico del fruto de *Arbutus xalapensis* el que mostró mayor actividad contra *S. typhimurum*, *L. monocytogenes* y *E. coli*, el extracto de hoja tallo y raíz de *Heterotheca inuloides* con *S. epidermidis* y el extracto de tallo y hojas de *Mimosa malacophylla* ante *E. coli* O157:H7.

La concentración mínima bactericida obtenida contra *E.coli* fue de 23.3 \pm 5.2 mg/ml del extracto de tallo hojas y raíz de *Grindelia inuloides* y 46.7 \pm 5.2 mg/ml del extracto de tallo y hojas *Mimosa malacophylla*, la CMB de *S. epidermidis* es de 17.5 \pm 2.7 mg/ml del extracto de hojas tallo y raíz de *Grindelia inuloides* y 19.2 \pm 2 mg/ml del extracto de tallo y hojas de *Mimosa malacophylla*.

La toxicidad de los extractos metanólicos de tallo y hojas de *Mimosa malacophylla* y de la planta completa de *Teucrium cubense* fueron clasificados como relativamente inocuos, los de hojas tallo y raíz de *Grindelia inuloides* y

hojas tallo y raíz de *Heterotheca inuloides* como relativamente tóxicos y por último se clasificó el extracto de tallo y hojas de *Arbutus xalapensis* como altamente tóxico.

En todos los extractos metanólicos se encontró la presencia de esteroides, triterpenos, cumarinas, grupo carboxilo, taninos y carbohidratos. Los resultados de la presente investigación generaron información muy valiosa encaminada a encontrar nuevas alternativas para la prevención y tratamiento de infecciones bacterianas

9.- BIBLIOGRAFÍA

- Ayyanar, M., y Ignacimuthu, S. (2011). Ethnobotanical survey of medicinal plants commonly used by Kani tribals in Tirunelveli hills of Western Ghats, India. *Journal of Ethnopharmacology*, 134(3), 851-864.
- Bustamante Rodríguez, C. G. (2013). *Etnobotánica de tres municipios del norte del estado de Nuevo León, México* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
- Cabrera Cao, Y., Fadrugas Fernández, A., y Guerrero Guerrero, L. G. (2005). Antibióticos naturales: Mito o realidad. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 21(3-4), 0-0.
- Cabrera, C. E., Gómez, R. F., y Zúñiga, A. E. (2007). La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colombia Médica*, 38(2), 149-158.
- Carranza C. (2013). Plantas Medicinales de Real de Catorce, San Luis Potosí, México. Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias Forestales, UANL, N.L., México.
- Céspedes C, Avila J, Martínez A, Serrato B, Calderón J, Salgado R. Antifungal and antibacterial activities of Mexican Tarragon (*Tagetes lucida*). *J Agric Food Chem.* (2006); 54 (10): 3521-3527.
- Cruz Vega, D. E. (2002). *Análisis fitoquímico y caracterización parcial de compuestos con actividad estimuladora sobre macrófagos y/o actividad antimicrobiana en extractos de raíz, tallo y hoja de Carlwrightia cordifolia A. Gray* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
- Das K, Tiwari R, y Shrivastava D. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *J. Med. Plant. Res.* 4(2):104-111.

- Estrada, E., Villarreal, J. A., Cantú, C., Cabral, I., Scott, L., y Yen, C. (2007). Ethnobotany in the Cumbres de Monterrey National Park, Nuevo León, México. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 3(1), 1.
- Forero. G.A. (2002). Estudio Fitoquímico del extracto etanólico de la madera de "Virola carinata" (Myristicaceae). Tesis. Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Farmacia.
- Hassan-Abdallah, A., Merito, A., Hassan, S., Aboubaker, D., Djama, M., Asfaw, Z., y Kelbessa, E. (2013). Medicinal plants and their uses by the people in the Region of Randa, Djibouti. *Journal of ethnopharmacology*, 148(2), 701-713.
- Huerta, C. (1997). La herbolaria: mito o realidad. *CONABIO. Biodiversitas*, 12, 1-7.
- Jasso, G; S,N. (2015) ETNOBOTÁNICA DE PLANTAS MEDICINALES DEL MUNICIPIO DE GÜÉMEZ, TAMAULIPAS, MÉXICO. Tesis de Maestría Facultad de Ciencias Forestales. UANL. 75p.
- Kahkashan P, Najat AB, Soliman Daw. Antibacterial activity of Phoenix dactylifera L. leaf and pit extracts against selected Gram negative and Gram positive pathogenic bacteria. *J Med Plants Res.* (2012); 6(2): 296-300.
- López-Brea, M., & Domingo, D. (2003). Plantas con acción antimicrobiana. *Revista Española de Quimioterapia*, 16(4), 385-393.
- Marinoff, M. A., Martínez, J. L., y Urbina, M. A. (2009). Precauciones en el empleo de plantas medicinales. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*.
- Martínez, M. C., Delgado, T. H., Nieto, J. C., de Vivar Romo, A. R., Díaz, Á. D., y Saade, R. L. (2006). Análisis cuantitativo del conocimiento tradicional de las plantas medicinales en San Rafael, Coxcatlán, Valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla, México. *Acta Botánica Mexicana*, (75), 21-43.

- Martínez. C y Beltran, M. (1999). Estudio Fitotoxicológico Preliminar de diez especies vegetales utilizadas en medicina natural. Tesis (Químico Farmacéutico). Universidad nacional de Colombia. Departamento de Farmacia.
- Meyer BN, Ferrigni NR, Putman JE, Jacobsen LB, Nichols DE. y McLaughlin JL. (1982). Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Médica* 45(3):1-34.
- Miles A. y Misra S.S. (1938). *Journal of Hygiene* 38:732.
- Pandey A y Tripathi S. (2014). Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. 2(5):115-119.
- Pérez, R. D. (1998). Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Información terapéutica del sistema nacional de salud*, 22(3), 57-67.
- Rodríguez R, Morales ME, Verde MJ, Oranday A, Rivas C, Núñez MA, González GM, Treviño J. Actividad antibacteriana y antifúngica de las especies de *Ariocarpus kotschoubeyanus* (Lemaire) y *Ariocarpus retusus* (Scheidweiler) (Cactaceae). *Rev Mex Cienc Farm.* (2010); 41 (1): 57-58.
- Sánchez E, Heredia N. & García S. (2010). Extracts of edible and medicinal plants damage membranes of *Vibrio cholerae*. *Applied and Environmental Microbiology* 76(20):6888-6894
- Sánchez, Lizbeth; Neira, Adriana. Bioensayo General de Letalidad en *Artemia Salina*, a Las Fracciones del Extracto Etanólico De *Psidium Guajava*. L y *Psidium Guineense*. Sw. *Cultura Científica*, (2011), no 3, p. 40-45.
- Sánchez, N. B. La herbolaria en la Nueva España y su empleo en la botica del Colegio de Vizcaínas 1775-1780. *Multidisciplina*, (11).
- Solís PN, Wright CW, Anderson MM, Gupta MP & Phillipson JD. (1993). A microwell cytotoxicity assay using *Artemia salina* (brine shrimp). *Planta Médica*. 59:250-252.

Stevens, N. (1997). *Aloe vera*. Editorial Sirio, SA.

Vega-Menchaca, M. D. C., Verde-Star, J., Oranday-Cárdenas, A., Morales-Rubio, M. E., Núñez-González, M. A., Rivera-Guillén, M. A., ... y Rivas-Morales, C. (2013). Actividad antibacteriana y citotóxica de *Leucophyllum frutescens* (Berl) IM Johnst del Norte de México contra *Staphylococcus aureus* de aislados clínicos. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 44(2), 24-30.

Williamson, E. M., Okpako, D. T., y Evans, F. J. (1996). Selection, preparation, and pharmacological evaluation of plant material. *Pharmacological methods in phytotherapy research (USA)*.

10.- ANEXOS

Anexo 1 Listado de especies útiles y sus usos

NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTIFICO	FINALIDAD DE USO	PARTE DE LA PLANTA UTILIZADA	ELABORACIÓN
Ajenjo	<i>Artemisia absinthium</i>	-Insecticida -Dolor de estomago -Antiséptico	Hojas	Te
Ajo	<i>Allium sativum</i>	-Tos -Aumenta defensas -Antiparasitario -Antiséptico -Colesterol -Gripa	Fruto	Te Crudo
Alamo plateado	<i>Populus alba</i>	-Presión	Corteza	Te
Albahaca	<i>Ocimum basilicum</i>	-Dolor de estomago	Hojas	Te
Altamisa	<i>Ambrosia confertiflora</i>	-Dolor de estomago	Hojas	Te
Amor seco o aceitilla	<i>Bidens odorata</i>	-Gastritis	Tallo hojas y flor	Te
Árnica	<i>Heteroteca inuloides</i>	-Dolor por golpes -Desinflamatorio -Cicatrizante	Tallo flor y hojas	Infusión directa a la herida y te
Árnica morada	<i>Grindelia inuloides</i>	-Dolor por golpes -Desinflamatorio -Cicatrizante	Tallo flor y hojas	Infusión directa a la herida y te
Cebolla	<i>Allium cepa</i>	-Tos -Asma	Fruto	Te
Cenizo	<i>Leucophyllum frutescens</i>	-heridas	Hojas	-Infusión directamente a una herida -Te
Charrasquilla	<i>mimosa malacophylla</i>	-Piedras en riñon -Infecciones	Tallo y hojas	Te

		urinarias		
Cola de caballo	<i>Equisetum hyemale</i>	-Infecciones en sistema urinario -Piedras o arenillas en riñones	Tallo	Te
Durazno	<i>Prunus persica</i>	-Quemaduras	Hojas	Cruda
Elote	<i>Zea mays</i>	-Infecciones urinarias -Piedras en riñones	Pelos	Te
Epazote	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	-Antiparasitario -Dolor estomacal -Cólicos menstruales	Hojas y tallo	Te
Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i>	-Tos	Hojas	Te
Gobernadora	<i>Larrea tridentata</i>	-Hongos de pies -Diabetes -Dolor de cabeza - Acné -Cicatrizante -Tos -anemia	Hojas y tallo	-Hervir hasta que se espese y aplicar sobre el área a tratar -Te
Gordolobo	<i>Gnaphalium viscosum</i>	-Tos -Bronquios -Asma	Hojas y flor	Te
Guaco	<i>Sansevieria thyrsiflora</i>	-Alergias en piel -Picaduras de insectos	Penca	Cruda
Hierba buena	<i>Mentha spicata</i>	-Fertilidad -Flatulencias -Desinflamatorio	Hojas	Te
Hierba de la gallina	<i>Teucrium cubense</i>	-Infecciones vaginales - hemorroides	Completa	Infusión y cruda
Hierba del cáncer	<i>Acalypha lindheimeri</i>	-Cáncer de matriz -Moretones -Dolor por golpes	Tallo flor y hoja	Te
Hierba del sapo	<i>Eryngium carlinae</i>	-Colesterol	Completa	Te
Hierba del	<i>Turnera</i>	-Fertilidad	Hojas y	Te

venado	<i>diffusa</i>		tallo	
Histafiate	<i>Artemisia ludoviciana</i>	-Laxante -Antiparasitario	Tallo y hojas	Te
Hojasé	<i>Flourensia cernua</i>	-Cuerpo cortado -Infecciones digestivas	Hojas	Te
Lantrisco	<i>Rhus virens</i>	-Diabetes	Hojas	Te
Laurel	<i>Laurus nobilis</i>	-Mareos	Hojas	Te
Madroño	<i>Arbutus xalapensis</i>	-Dolor por golpes -Heridas	Tallo hojas y fruto	Infusión
Maguey	<i>Agave sp.</i>	-Infecciones urinarias	Penca	Te
Malva	<i>Malva parviflora</i>	-Heridas -Dolor por golpes	Hojas	Infusión
Manzanilla	<i>Matricaria recutita</i>	-Dolor de estomago -Colicos menstruales -Cicatrizante -Comezón -Regular ciclo menstrual	Hojas tallo y flor	Te
Marrubio	<i>Marrubium vulgare</i>	-Dolor de estomago -Estimula el apetito	Hojas	Te
Mejorana	<i>Origanum majorana</i>	-Dolor de estomago	Hoja	Te
Menta	<i>Mentha piperita</i>	-Dolor de estomago	Hojas	Te
Nogal	<i>Carya illinoensis</i>	-Diarreas -anemia	Corteza	Te
Olivo	<i>Olea europaea</i>	-Colesterol	Hojas	Te
Orégano	<i>Origanum vulgare</i>	-Tos -Anginas -Dolor de cabeza -Celulitis	Hoja	Te
Ortiguilla	<i>Urtica dioica</i>	-Circulación	Completa	Se deja en

				alcohol y se unta en las piernas
Palo azul	<i>Eysenhardtia texana</i>	-Infecciones urinarias	Tallo	Te
Picaro	<i>Bidens pilosa</i>	-Infecciones urinarias -Hemorroides	Raíz	Te y cruda
Pinwica	<i>Arctostaphylos pungens</i>	-Infecciones urinarias	Raíz	Te
Poleo	<i>Hedeoma drummondii</i>	-Dormir -Gripa	Tallo y hoja	Te
Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i>	-Acné -Cólicos menstruales -Dolor de estomago	Tallo y hojas	Te
Ruda	<i>Ruta graveolens</i>	-Aborto -Regula ciclo menstrual -Dolor de oído	Tallo y hojas	Te y cruda
Sábila	<i>Aloe vera</i>	-Gastritis -Cicatrizante -Madurar abscesos -Colitis -Acné -Dolor por golpes -Irritación de piel -Hemorroides -Quemaduras	Pencas	-Pulpa directa sobre el área a tratar -Té -Jugo de pulpa
Sacasil	<i>Echinocereus poselgeri</i>	-Fracturas -Artritis -Dolor por golpes	Completa	Cruda
Salsafras	<i>Bursera fagaroides</i>	-Diabetes	Hojas	Te
Salvia	<i>Croton incanus</i>	-Anemia	Hojas	Te
San nicolas	<i>Chrysactinia mexicana</i>	-Dolor de estomago -Fertilidad	Tallo y hojas	Te
Toronjil	<i>Agastache</i>	-Dolor de	Hojas	Te

	<i>palmeri</i>	estomago		
Uña de gato	<i>Zanthoxylum fagara</i>	-Cáncer -Infecciones urinarias	Tallos y hojas	Te
Yerbaniz	<i>Tagetes lucida</i>	-Presión	Tallos, hojas y flor	Te
Zacate limón	<i>Cymbopogon citratus</i>	-Vomito	Hojas	Te